

ラインスキャン蛍光スペクトル顕微分光による緑藻クロレラと植物の葉緑体の微細構造の差異

熊崎茂一(1) 長谷川慎(1) 吉田隆彦(1) 寺嶋正秀(1) 池上勇(2) 椎名隆(3)

(1)京大院・理, (2)帝京大・薬, (3)京府大・人間環境

[序] 植物などが行う光合成は常に光環境の変化にさらされており、光を有効利用するために、あるいは強すぎる光の毒性を抑制するために、光合成を行うチラコイド膜はさまざまな光環境応答特性を示す。我々はチラコイド膜が示す環境応答ダイナミクスを理解することを目指して、顕微分光機器の装置開発と実際のチラコイド膜への応用を行っている。植物のチラコイド膜では、膜が折れ重なったグラナ構造と折れ畳まれていない領域とに分かれていることが主に電子顕微鏡による研究から知られてきた。一方、緑藻も植物とほぼ同様のチラコイド膜を含む葉緑体を持つ。緑藻のチラコイド膜ではグラナ構造とそれ以外の重なりが弱い領域への分離は一部の限られた種に限定されているということも報告されている。本研究では植物（トウモロコシ）と緑藻（クロレラ）のチラコイド膜の差異を蛍光スペクトルと微細構造の両面から検討した。光学的方法では、電子顕微鏡と比べれば空間分解能は2桁程度劣るものの、蛍光スペクトルは、光化学系 I、光化学系 II、およびそれらの光捕集系の量比、量子効率と相互作用に関する情報を含んでいるほか、電子顕微鏡と違って生理的環境での測定が可能であることから、光学的方法への期待は高い。電子顕微鏡の知見を生かしながら、光学的方法でどこまで微細構造の情報を取り出せるか調べるのが現時点でのひとつの課題である。

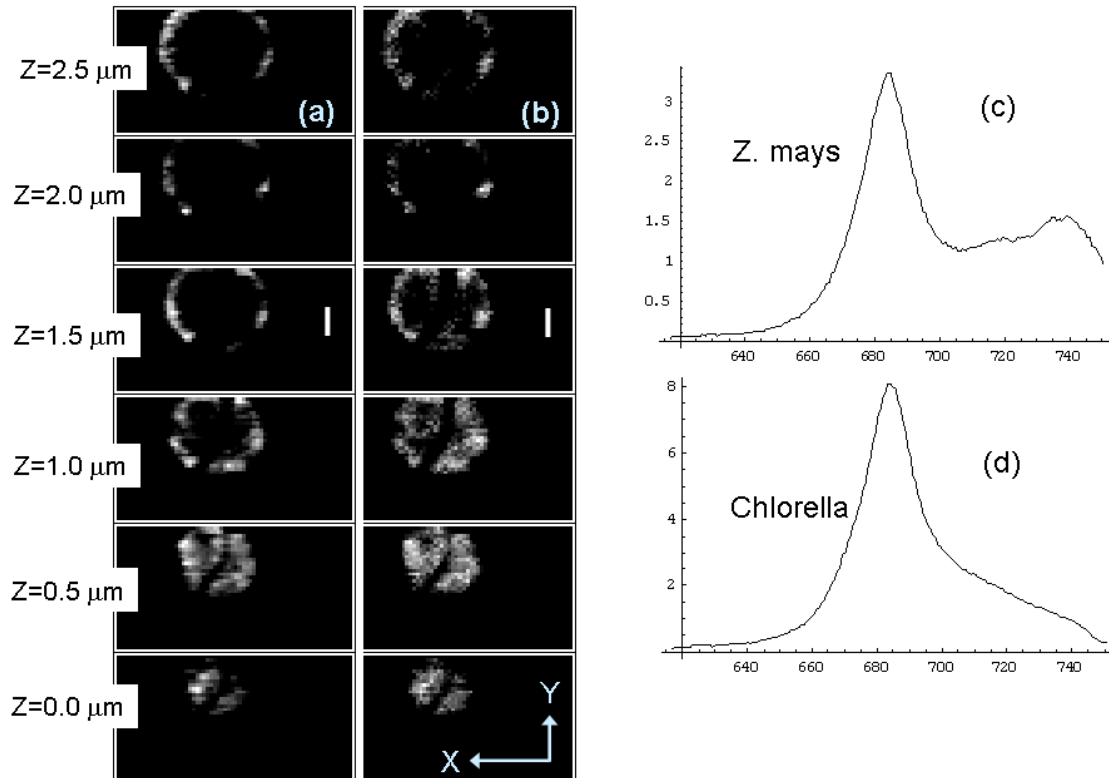
[実験条件] トウモロコシとクロレラは研究室内で栽培または培養したものをスライドガラスとカバーガラスにはさんで観察対象試料とした。昨年度の分子構造総合討論会において、ラインスキャン蛍光スペクトル顕微鏡の詳細を報告したが、同じ装置を使用した。励起は805 nm、0.1ピコ秒パルス幅の近赤外レーザーによる2光子励起で、蛍光観察波長領域は600–750 nmであった。この波長領域では主にクロロフィルからの蛍光スペクトルが観察される。

[結果] トウモロコシとクロレラについて、赤色領域（665–681 nm）と遠赤領域（715–740 nm）の蛍光断層像をくらべた。特にクロレラについて示すと図（a：赤）、（b：遠赤）のようになる。クロレラでは赤色蛍光と遠赤色蛍光の分布の差は比較的小さい。一方、トウモロコシでは赤色蛍光と遠赤色蛍光の分布の差異が大きい（図は示していない）。すなわち、赤色蛍光はサブマイクロメートルの大きさで一部に集中がみられるが、遠赤色蛍光は葉緑体全体に比較的均一に分布している。

トウモロコシと植物で、葉緑体の3次元空間全点から蛍光スペクトルを取得して全体の平均のスペクトルを示すと図（c）、（d）のようになる。トウモロコシでは735 nm付近に局所極大を示すが、クロレラではそのような局所極大はなく、スペクトルはQ_yバンドの極大（683 nm付近）から長波長側に向うと単調に減少する。

[考察] トウモロコシにおいてのみ蛍光スペクトルに光化学系 I の蛍光が含まれること

がトウモロコシとクロレラの蛍光分布波長依存性の差異を作り出していると思われる。クロレラの場合、遠赤色蛍光は光化学系 I I のクロロフィル蛍光が長波長側に伸びていることで生じるとされる。このように、我々は植物においてグラナ構造を確認することができた。クロレラとの比較により、それは確かに種の違いによるチラコイド膜構造の微細構造の差を反映していると思われる。講演当日はスペクトルと画像のさらに詳細な情報について解説する。



[文献]

1) “ Line-Scanning Semiconfocal Multiphoton Fluorescence Microscope with a Simultaneous Broadband Spectral Acquisition and its Application to the Study of the Thylakoid Membrane of a Cyanobacterium *Anabaena* PCC7120”
 Shigeichi Kumazaki*, Makoto Hasegawa, Mohammad Ghoneim, Yugo Shimizu, Kenji Okamoto, Masayoshi Nishiyama, Hirozo Oh-oka† and Masahide Terazima, *Journal of Microscopy*, in press, (2007), November.